

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 23 日現在

機関番号：32425

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590144

研究課題名(和文) オキセタノイドグリカールを利用する分岐糖型オキセタノシンの合成とその生物活性

研究課題名(英文) Synthesis and evaluation of antiviral activities of branched oxetanosine A.

## 研究代表者

原口 一広 (Haraguchi, kazuhiko)

日本薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：10218638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：オキセタノイドグリカール35をN-ヨードコハク酸イミド(NIS)の存在下、シリル化したN6-ベンゾイルアデニンと反応させたところ、グリコシド36aが25%の収率で得られた。得られた36aをベンゼン中、アゾイソブチロニトリル(AIBN)をラジカル開始剤に用い、アリルトリブチルスタナン(Bu<sub>3</sub>SnCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)と反応させた結果、3'-C-アリル体37がジアステレオマーの混合物として78%の収率で得られた。次に、アリル体37をMeOH-THF混合溶媒中、ヒドリド還元を行い、3'-C-アリルオキセタノシンAの保護体を得た。最後に、脱保護により、3'-C-プロピルオキセタノシンAの合成を達成した。

研究成果の概要(英文)：When oxetanoid glycal was reacted silylated N6-benzoyladenine in the presence of N-iodosuccinimide, the desired glycoside was obtained in 25% yield. Reaction of the glycoside with allyltributylstannane was carried out in the presence of AIBN to furnish 3'-C-allyl derivative in 78% yield as diastereomeric mixture. The allylated nucleoside was subjected to hydride reduction of the ester moiety followed by NaOMe-mediated removal of the benzoyl group of the adenine moiety provided the target 3'-C-allyl-oxetanosine A.

研究分野：医薬品化学

キーワード：オキセタノシン グリカール オキセタン 求電子付加 グリコシル化 ラジカル反応 抗ウイルス活性

1. 研究開始当初の背景

オキセタノシン A (1) は、抗 HIV (ヒト免疫不全ウイルス) 活性、抗 HCMV (ヒトサイトメガロウイルス) 活性および抗 HSV (単純ヘルペスウイルス) 活性を示すヌクレオシド系抗生物質である (Figure 1)。この化合物の構造上の特徴は、その糖部分が核酸に含まれるペントフラノースではなく、四員環のオキセタノースであることである。そのユニークな糖部分の構造は合成化学者の標的化合物として注目を集め、種々の誘導体が合成されてきた (Chemical Review, 1992, 92, 1745)。例えば、オキセタノシン A の核酸塩基がチミンに置き換わったオキセタノシン T (2) は、抗 HSV 活性および抗 VZV (バリセラゾスターウイルス) 活性を示す。また、オキセタノシン G (3) は、抗 HCMV 活性および抗 HBV (B 型肝炎ウイルス) 活性を示す。一方、オキセタノース部分が化学修飾を受けた誘導体として、ヒドロキシメチル基が欠落した 4、ヒドロキシメチル基が水酸基となった 5 や 6、さらにアジド基となった 7 が報告されており、いずれも抗 HIV 活性を示す。

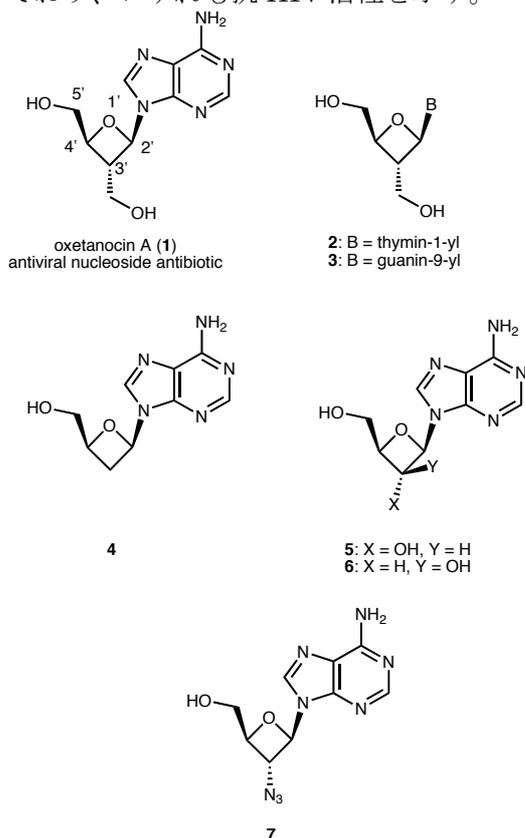


Figure 1. Structure of oxetanocin A (1) and its base- or sugar-modified derivatives 2-7.

ヌクレオシドのペントフラノース部分に炭素鎖が分岐した誘導体は、様々な生物活性を示す。アデノシンの 1' 位にヒドロキシメチル基が分岐した 8 はヌクレオシド系抗生物質であるアングストマイシン C であり、抗腫瘍活性を示す (Figure 2)。また、2'-メチルアデノシン 9 は抗 HCV (C 型肝炎ウイルス) 活性を、3'-エチニルシチジン

10 は抗腫瘍活性を、そして 4'-シアノチミジン 11 は抗 HIV 活性を示す。以上の報告から、オキセタノシン A の糖部分に炭素置換基が分岐した分岐糖型誘導体は様々な生物活性を示すことが期待されるが、現在までにその合成の報告例はない。

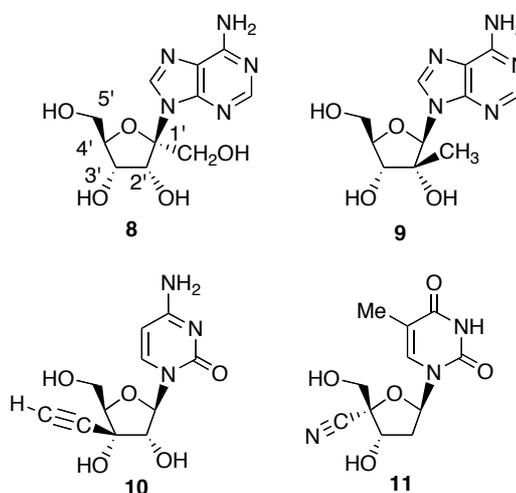
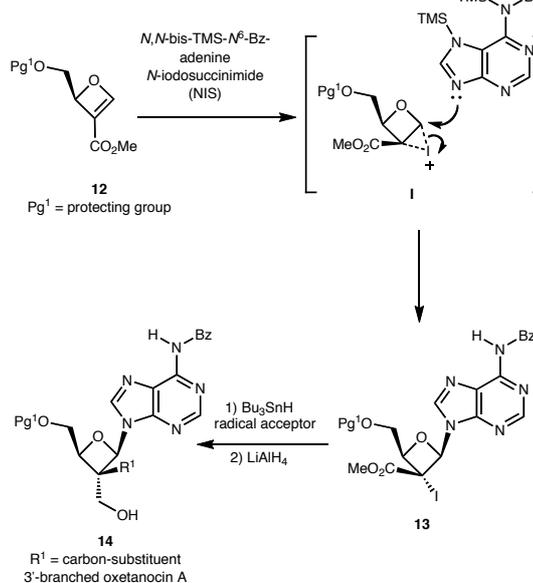


Figure 2. Structures of branched-sugar nucleosides 8-11.

2. 研究の目的

以上の背景のもと申請者らは、新規な糖供与体であるオキセタノイドグリカルと核酸塩基とのグリコシル化を基盤とすることにより、分岐糖構造を有するオキセタノシン A 誘導体の合成法の確立を企図した。即ち、オキセタノイドグリカル 12 と N<sup>6</sup>-ベンゾイルアデニンとの求電子的なグリコシル化により、中間体 I を経てグリコシド 13 を得る (Scheme 1)。グリコシド 13 は、



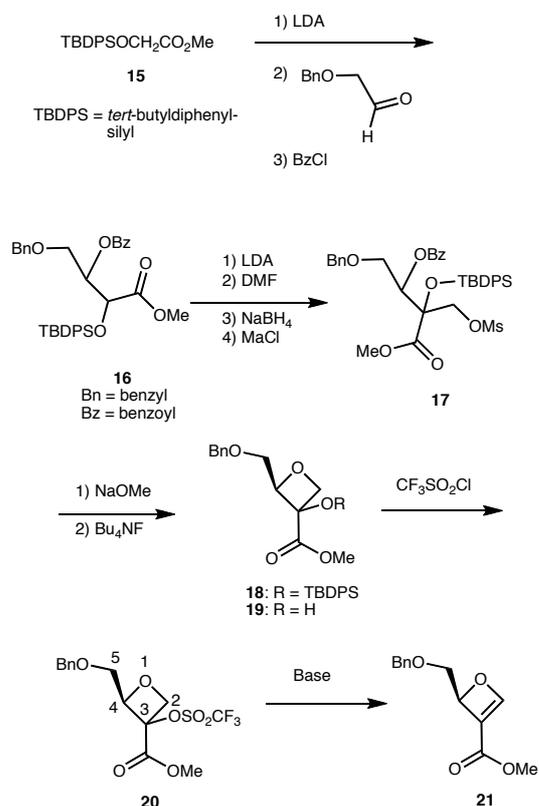
Scheme 1. Synthetic plan leads to 3'-branched oxetanocin A 14 utilizing oxetanoid glycal 12.

ラジカル的な炭素-炭素結合形成反応とエステルの還元反応により 3' 位に炭素鎖 (R<sup>1</sup>) の分岐した 14 が得られる。本研究

は、オキセタノイドグリカル (12) を新規な糖供与体として用い、3'位に炭素鎖の分岐したオキセタノシン誘導体 A (14) の合成法を開発すると共に、14 の脱保護により得られる新規ヌクレオシドの抗ウイルス活性を系統的に調べることを目的とする。

### 3. 研究の方法

オキセタノイドグリカル 21 の合成は、*tert*-ブチルジフェニルシリル (TBDPS) オキシ酢酸メチル (15) を原料に用いる (Scheme 3)。化合物 15 をリチウム ジイソプロピルアミド (LDA) によりリチウムエノラートとした後、ベンジルオキシアセトアルデヒドと反応させて得られる  $\beta$ -ヒドロキシエステルをベンゾイル化し 16 を得る。次に、16 を LDA によりリチウムエノラートとした後、ジメチルホルムアミド (DMF) と反応させ、生成したアルデヒドを水素化ホウ素ナトリウムで還元し、引き続き第一級水酸基のメシル化を経て 17 を得る。

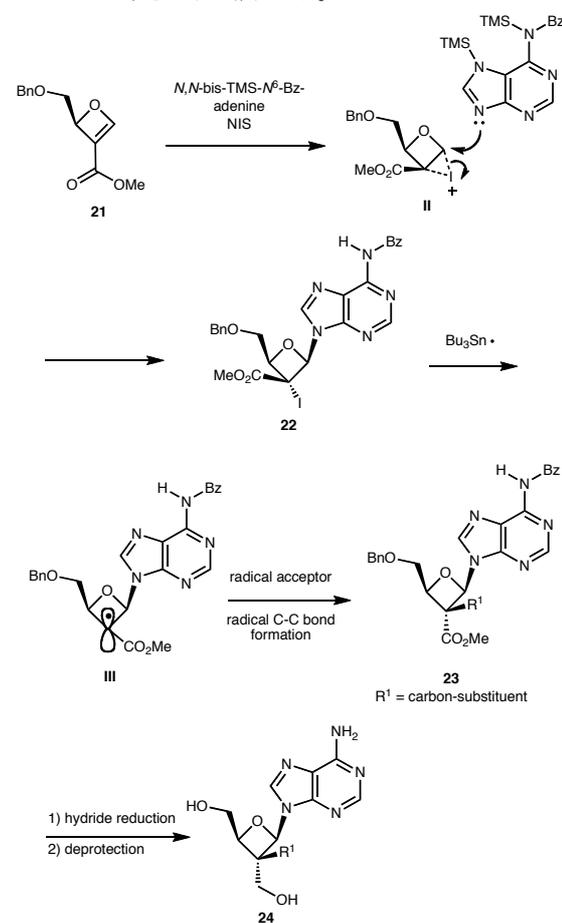


Scheme 2. Preparation of oxetanod glycal 21.

得られたメシレート 17 をナトリウムメトキシドで処理し脱ベンゾイル化すると、生成したアルコキシドによる分子内 S<sub>N</sub>2 反応による閉環反応が進行し、オキセタン 18 が得られる。オキセタン 18 の第三級水酸基を脱シリル化して 19 とした後、トリフルオロメタンスルホネート 20 とする。引き続き、スルホネート 20 を塩基で処理すると、より酸性度の高い 2 位の水素原子の引抜きに伴う脱離反応が進行し、目的とする

グリカル 21 が位置選択的に得られる。

新規な糖供与体であるオキセタノイドグリカル 21 を *N*-ヨードコハク酸イミド (NIS) の存在下、シリル化した *N*<sup>6</sup>-ベンゾイルアデニンと反応させると、中間体として生成するヨードニウムイオン II の 2 位への位置選択的なアデニンの攻撃が進行し、グリコシド 22 が得られる。得られた 22 に対してトリブチルスズラジカルを反応させると、ラジカル中間体 III が生成し、引き続きラジカルアクセプターとの反応により、炭素鎖 (R<sup>1</sup>) の分岐糖した誘導体 23 が得られる。最後に、23 のヒドリド還元と脱保護を行い標的化合物である 3'-分岐糖オキセタノシン A 24 を合成する。新規ヌクレオシド誘導体 24 は、その抗ウイルス活性について系統的に調べる。

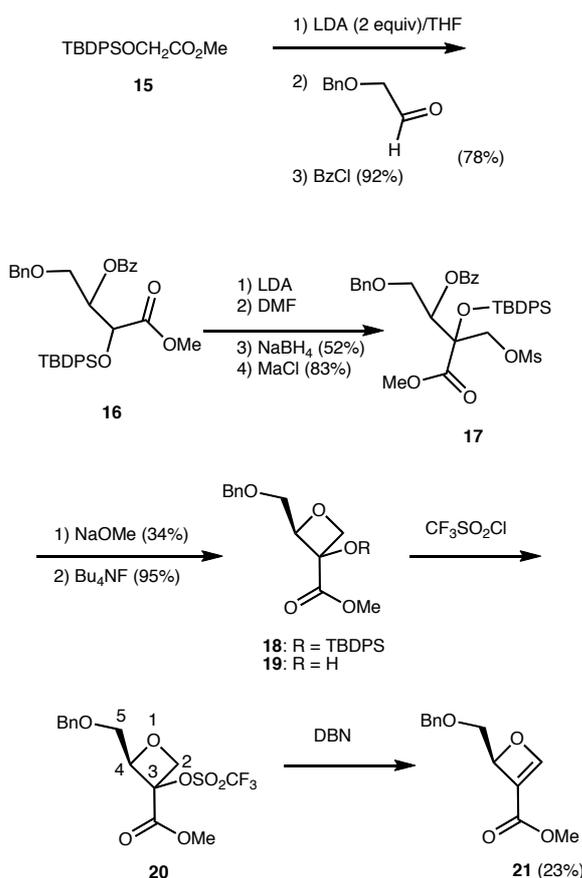


Scheme 3. Synthesis of 3'-branched oxetanosine A 24.

### 4. 研究成果

*tert*-ブチルジフェニルシリル (TBDPS) オキシ酢酸メチル 15 を THF 中、-70 °C において 2 当量の LDA で処理した後、1 時間後にベンジルオキシアセトアルデヒドを加え、更に 2 時間反応させたところ、 $\beta$ -ヒドロキシエステルを 78% の収率で得た (Scheme 4)。得られたエステルの二級水酸基をベンゾイル基で保護し、目的とする 16 を 92% の収率で得ることができた。次に、エステル 16 の THF 溶液を 2 当量の

LDA と $-30^{\circ}\text{C}$  で反応させることにより生成したリチウムエノラートとジメチルホルムアミド (DMF) で処理したところ、*C*-ホルミル体が得られ、単離生成することなく水素化ホウ素ナトリウム ( $\text{NaBH}_4$ ) によるヒドリド還元によりヒドロキシメチル体を 52% の収率で得ることができた。ヒドロキシメチル体はピリジン中、メシルクロリドと氷冷下反応させ、メシル体 **17** を 83% で得た。化合物 **17** は、メタノール中ナトリウムメトキシドと反応させ、脱ベンゾイル化を行ったところ、分子内の閉環反応が進行し、オキセタン **18** が 34% の収率ながら得られることが判った。現在、副産物の構造決定には至っていない。オキセタン **18** は THF 中、テトラブチルアンモニウムフルオリド ( $\text{Bu}_4\text{NF}$ ) と反応させることにより **19** へ 98% で変換した。オキセタン環に二重結合を導入するために、**19** をアセトニトリル中、2 当量の DMAP と 3 当量のジイソプロピルアミンの存在下、トリフルオロメタンスルホニルクロリド ( $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ ) と反応させた。反応液を分液 (クロロホルム/飽和重層水) した後、有機層を濃縮

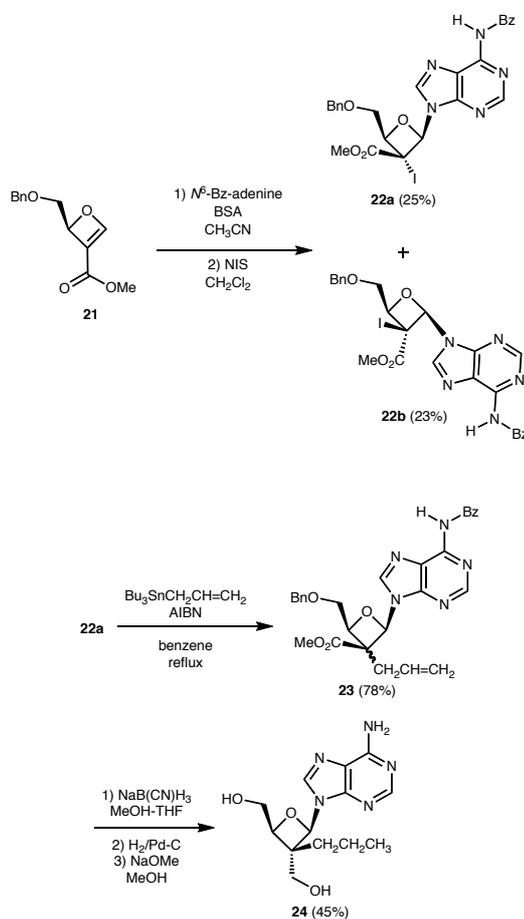


Scheme 4. Preparation of oxetanod glycal **21**.

した後、アセトニトリルに溶解し、3 当量の DBN と室温下反応させたところ、目的とする糖供与体であるオキセタノイドグリカル **21** を 23% の収率で得ることに成功した。

オキセタノイドグリカル **21** を *N*-ヨードコハク酸イミド (NIS) の存在下、シ

リル化した *N*<sup>6</sup>-ベンゾイルアデニンと反応させたところ、グリコシド **22a** とその立体異性体である **22b** がそれぞれ 25%、23% の収率で得られた。生成物の立体化学は NOE 実験により決定した。得られた **22a** をベンゼン中、アゾイソブチロニトリル (AIBN) をラジカル開始剤に用い、アリルトリブチルスタナン ( $\text{Bu}_3\text{SnCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ) と反応させた結果、3'-*C*-アリル体 **23** がジアステレオマーの混合物として 78% の収率で得られた。次に、アリル体 **23** を MeOH-THF 混合溶媒中、 $\text{NaB}(\text{CN})\text{H}_3$  と反応させることにより、エステルヒドリド還元を行い、3'-*C*-アリルオキセタノシン **A** の保護体を得た。最後に、接触還元による脱ベンジル化とメタノール中ナトリウムメトキシドによる脱ベンゾイル化により、標的化合物の一つである 3'-*C*-プロピルオキセタノシン **A** (**24**) の合成を達成した。



Scheme 5. Synthesis of 3'-branched oxetanosine **A** **24**.

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- (1) Kumamoto, H.; Kawahigashi, S.; Wakabayashi, H.; Nakano, T.; Miyaike, T.; Kitagawa, Y.; Abe, H.; Ito, M.; Haraguchi, K.; Tanaka, H. " Tuning

Efficiency of the 4-*Exo-trig* Cyclization by Electronic Effect: Ring-Closure of 3,3-Difluoro-4-pentenyl Carbon Radicals and Synthesis of *gem*-Difluorocyclobutane Nucleoside”, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8710–8717.

(2) Haraguch, K.; Takeda, S.; Kubota, Y.; Kumamoto, H.; Tanaka, H.; Hamasaki, T.; Baba, M.; Paintsil, E.; Cheng, Y.-C. “From the chemistry of epoxy-sugar nucleosides to the discovery of anti-HIV agent Festinavir”, *Current Pharmaceutical Design*, **2013**, *19*, 1880–1897.

(3) Kubota, Y.; Kaneda, Y.; Haraguch, K.; Abe, H.; Shuto, S. J.; Hamasaki, T.; Baba, M.; Tanaka, H. “Synthesis of Novel 4'-*C*-Methyl-1',3'-dioxolane pyrimidine nucleosides and evaluation of its anti-HIV-1 activity”, *Tetrahedron*, **2013**, *69*, 10884–10892.

(4) Duraffour, S.; Drillien, R.; Haraguch, K.; Balzarini, J.; van den Oord, J. J.; Andrei, G.; Snoeck, R. “KAY-2-41, a novel nucleoside analogue inhibitor of orthopoxviruses in vitro and in vivo”, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2014**, *58*, 27–37.

(5) Coen, N.; Duraffour, S.; Haraguch, K.; Van den Oord, J. J.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G. “Unique spectrum of anti-herpesvirus activity and potent *in vitro* and *in vivo* efficacy against Epstein-Barr virus mediated by 4'-thiothymidine analogs”, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2014**, *58*, 4328–4340.

(6) Shimada, H.; Haraguchi, K.; Hotta, K.; Miyaike, T.; Kitagawa, Y.; Tanaka, H.; Kaneda, R.; Abe, H.; Shuto, S.; Mori, K.; Ueda, Y.; Kato, N.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Balzarini, Y. “Synthesis of 3',4'-difluoro-3'-deoxyribonucleosides and its evaluation of the biological activities: Discovery of a novel type of anti-HCV agent 3',4'-difluorocordycepin”, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 6174–6182.

(7) Pande, P.; Haraguchi, K.; Greenberg, M. M.; Basu, A. Y. “Unlike Catalyzing Error-Free Bypass of 8-Oxo-dG, DNA Polymerase  $\lambda$  Is Responsible for a Major Part of Fapy-dG-Induced G→T Mutations in Human Cells”, *Biochemistry*, **2015**, *54*, 1859–1862.

〔学会発表〕(計11件)  
国内

(1) 第132年会(2012)(札幌)

“3,3-ジフロロ4-ペンテニルラジカルの4-*exo-trig*閉環反応:新規ジフルオロシクロブタンヌクレオシドの合成“

○熊本浩樹、川東祥子、若林宏美、中野智彦、宮池朋子、阿部 洋、原ロー広、田中博道

(2) 第133年会(2013)(横浜)

“ビニルスルホンに対する共役付加および脱硫的スタニル化を利用する3'-置換BCAの合成研究“

熊本浩樹、原ロー広、田中博道

(3) 第134年会(2014)(熊本)

“4'-*C*-メチルジオキソランピリミジンヌクレオシド:合成および配座解析に基づく抗HIV活性の考察“

窪田 豊、金田有理、原ロー広、水野美麗、阿部 洋、周東 智、濱崎隆之、馬場昌範、田中博道

(4) 第135年会(2015)(神戸)

“エンテカビルとアデホビルのハイブリッド型化合物:メチレンアシクロヌクレオシド誘導体の合成と抗HBV活性“

井本修平、向後 悟、徳田 亮、熊本浩樹、青木 学、天野将之、鎌田(東)伸好、満屋裕明、原ロー広

(5) 第135年会(2015)(神戸)

“スピロ[2.4]ヘプタン骨格を有する炭素環ヌクレオシドの合成と抗ウイルス作用の評価  
熊本浩樹、深野美里、徳田 亮、天野将之、鎌田(東)伸好、原ロー広、満屋裕明、福原潔

(6) 第23回抗ウイルス療法研究会(2013)

(東京)

“*gem*-ジフルオロシクロブタンヌクレオシ

ドの合成とその抗ウイルス活性”

熊本浩樹、川東祥子、若林宏美、中野智彦、  
宮池智子、北川康行、阿部洋、伊藤美香、原  
口一広、Jan Balzarini、馬場昌範、田中博道  
国際学会

(7) International Conference on Antiviral

Research 2012 (2012) (Sapporo)

“ Synthesis of  
4'-ethynyl-2'-deoxy-4'-thioribonucleosides  
and discovery of a highly potent and less toxic  
NRTI”

K. Haraguchi, H. Shimada, G. Akutsu, K. Kimura, H.  
Tanaka, T. Mamasaki, M. Baba, E. A. Gullen, G. E.  
Dutschman, Y.-C. Cheng, J. Balzarini

(8) International Conference on Antiviral

Research 2012 (2012) (Sapporo)

“The Highly Selective Inhibition of Epstein-Barr  
Virus RTeplication by KAY-02-41 and  
KAH-34-26 is dependent on the Virus  
Thymidine Kinase”

N. Coen, S. Duraffour, K. Haraguchi, K. Yamada, J.  
J. Van den Oord, J. Balzarini, R. Snoeck, G.  
Andrei

(9) XIX International Poxvirus, Asfavirus and  
Iridovirus Conference (2012) (Salamanca,  
France)

KAY-2-41: A novel nucleoside analog as inhibitor  
of orthopoxviruses in vitro and in vivo (2012)

(Salamanca, France)

S. Duraffour, K. Haraguchi, R. Drillien, K. Yamada,  
H. Tanaka, R. Snoeck, G Andrei

(10) International Conference on Antiviral  
Research 2013 (2013) (Sanfrancisco)

“The highly selective inhibition of Epstein-Barr  
virus replication by KAY-02-41 is dependent on  
the virus thymidine kinase”

N. Coen, S. Duraffour, K. Haraguchi, Kaori  
Yamada, J.J. Van den Oord, J. Balzarini, R.  
Snoeck, G. Andrei

(11) International Conference on Antiviral

Research 2013 (2013) (Sanfrancisco)

KAY-2-41: A novel nucleoside analog as inhibitor  
of orthopoxviruses in vitro and in vivo

S. Duraffour, K. Haraguchi, R. Drillien, K. Yamada,  
H. Tanaka, R. Snoeck, G Andrei

〔図書〕 (計 1 件)

(1) Haraguchi, K.; Takeda, S.; Kubota, Y.;  
Kumamoto, H.; Tanaka, H.; Hamasaki, T.; E; Baba,  
M.; Painsil, E.; Cheng, Y.-C.; Urata, Y., “Next  
generation anti-HIV agent 4'-ethynylstavudine:  
from the bench to the clinic”, *Frontiers in  
Clininal Drug Reseach: HIV*, Bentham Science  
Publishing, *Volume 1*, 123-184 (2015).

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原口一広 (HARAGUCHI Kazuhiro)

日本薬科大学 薬学部 教授

研究者番号：10218638

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：